

Maciej Malecki, Jacek Sieradzki

Rola polimorfizmów w genach związanych z metabolizmem witaminy D w patogenezie cukrzycy typu 2

Role of polymorphisms in vitamin D in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus

Rola podłoża genetycznego w patogenezie cukrzycy typu 2

Cukrzyca typu 2 ze względu na częstotliwość występowania, konsekwencje w postaci przewlekłych powikłań oraz koszty stanowi poważny problem medyczny i społeczny. W chorobie tej występują zaburzenia równowagi między ilością insuliny wydzielanej przez komórki β wysp trzustkowych a zapotrzebowaniem na ten hormon wynikającym z indywidualnie zróżnicowanej insulinowrażliwości [1]. Obraz fenotypowy cukrzycy typu 2 powstaje w wyniku interakcji czynników środowiskowych i genetycznych, co jest typowe dla schorzeń o charakterze złożonym [1–3]. Z punktu widzenia patogenyzy tej choroby istnieje szerokie spektrum wzajemnych relacji środowiska i genetyki. Na jednym jego końcu znajdują się liczne przypadki ujawniające się w późnym wieku, z towarzyszącą otyłością, bez cukrzycy w wywiadzie rodzinnym. Tutaj o zachorowaniu decydują dobrze zdefiniowane czynniki środowiskowe, takie jak: otyłość, siedzący tryb życia, dieta wysokokaloryczna. Na drugim krancu tego spektrum można umieścić cukrzycę typu 2 o wczesnym początku, z bogatym wywiadem rodzinnym, w której powstawaniu znaczenie mają prawie wyłącznie czynniki genetyczne [1, 3, 4]. Choć pozostają one w większości nieznane, każdego roku nasza wiedza w tej dziedzinie rozwija się.

Badania genetyczne nad molekularnym podłożem cukrzycy typu 2 posiadają olbrzymie znaczenie naukowe, a w coraz większym stopniu także prognostyczne, profilaktyczne i terapeutyczne. Do chwili obecnej udowodniono związek mutacji w 6 różnych genach z powstawaniem autosomalnej dominującej cukrzycy typu 2. Cukrzyca ta łączy się z defektem komórki β , a jej formy o wczesnym początku znane są w literaturze jako MODY (*Maturity-Onset Diabetes of the Young*) [4–10]. Autosomalna dominująca cukrzyca typu 2 cechuje występowanie choroby w kilku kolejnych pokoleniach, wysoki wskaźnik penetracji wśród nosicieli zmutowanego genu oraz pewien stopień klinicznej heterogenności jej poszczególnych form [4]. Mutacje zidentyfikowane w genie glukokinazy są odpowiedzialne za postać stosunkowo łagodną klinicznie [4, 11]. Glukokinaza jest enzymem katalizującym tworzenie glukozy-6-fosforanu z glukozy, a w konsekwencji syntezę ATP, i przez to regulującym wydzielanie insuliny oraz metabolizm glukozy w wątrobie [12, 13]. Cięższe klinicznie formy autosomalnej dominującej postaci cukrzycy są wynikiem mutacji w czynnikach transkrypcyjnych, które pośrednio lub bezpośrednio odpowiadają za ekspresję genu insuliny [4, 6–10]. Wśród postaci związanych z czynnikami transkrypcyjnymi ze względu na częstotliwość występowania należy wyróżnić MODY 3, która powstaje w wyniku mutacji w hepatocytowym czynnikiem jądrowym (*hepatocyte nuclear factor*)-1 α [4, 6]. Kolejną postać cukrzycy typu 2, która została dobrze zdefiniowana na poziomie molekularnym, stanowią przypadki cukrzycy uwarunkowanej mutacjami w DNA mitochondrialnym [14, 15]. Dziedziczenie defektów mitochondrialnych ma cha-

Adres do korespondencji: Prof. dr hab. med. Jacek Sieradzki
Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych
Collegium Medicum UJ
ul. Kopernika 15, 31-501 Kraków
Diabetologia Praktyczna 2000, tom 1, nr 1, 1–6
Copyright ©2000 Via Medica
Nadesłano: 2000.09.05 Przyjęto do druku: 2000.10.05

rakter matczyny. Opisano szereg mutacji, z których najczęstsza jest substytucja A3243G w mitochondrialnym genie tRNA leucyny [15, 16]. Mutacje te pierwotnie zidentyfikowano u chorego z zespołem MELAS (*mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis, and stroke like episodes*) [17]. Z czasem okazało się, że jest ona związana z różnymi fenotypami, między innymi z cukrzycą typu 2, której czasami towarzyszy upośledzenie słuchu (MIDD, *maternally inherited diabetes with deafness*) [14, 15]. Cukrzyce tego typu charakteryzuje stosunkowo wczesny początek w 3–5 dekadzie życia. Podobnie jak autosomalna dominująca cukrzyca typu 2, MIDD jest związana z upośledzeniem wydzielania insuliny.

Mimo że insulinooporność odgrywa bardzo istotną rolę w patogenezie cukrzycy typu 2, jej molekularne podłoże pozostaje prawie całkowicie nieznane [1]. Mutacje w genie receptora insulinowego są zjawiskiem rzadkim i w ogromnej większości przypadków tej choroby nie występują [18, 19]. Opisano do tej pory kilkadziesiąt przypadków insulinooporności związanych z mutacjami przynajmniej jednego allelu receptora insulinowego. Mechanizmy patofizjologiczne mutacji można podzielić na kilka grup: patologia proreceptora, upośledzenie transportu dojrzałego receptora na powierzchnię komórek, upośledzenie łączenia receptora z insuliną, defekt kinazy tyrozynowej. Klinicznie, obok zaburzeń tolerancji glukozy z insulinoopornością, występują zmiany skórne o typie *acanthosis nigricans* i hiperandrogenizm [20].

Wysiłki mające na celu identyfikację genów odpowiedzialnych za najbardziej powszechne formy cukrzycy typu 2, które pojawiają się w średnim oraz w starszym wieku i są związane zarówno z upośledzonym wydzielaniem insuliny, jak i z insulinoopornością, napotykały na liczne problemy. Mimo że opublikowano doniesienia o sprzeczności między cukrzycą typu 2 a kilkoma regionami chromosomalnymi, z których część znalazła niezależne potwierdzenie w różnych populacjach [21–24], poszukiwanie genów do niedawna nie było uwieńczone sukcesem. Ten brak postępu może łączyć się z kilkoma czynnikami. Identyfikacja nowych genów lub regionów chromosomalnych natrafia na trudności związane ze złożonym, wielogenowym mechanizmem dziedziczenia cukrzycy typu 2. Jedną z konsekwencji tego stanu rzeczy są trudności w doborze optymalnych metod statystycznych, wykazujących jednocześnie odpowiednią czułość i swoistość, pozwalających na udowodnienie związku danego regionu chromosomalnego lub polimorfizmu z badaną jednostką chorobową. Problemy dotyczące rekrutacji rodzin do

badan genetycznych nad cukrzycą typu 2 wiążą się przede wszystkim z późnym początkiem choroby. W następstwie tego faktu zebranie rodzin dwupokoleniowych jest zadaniem trudnym, zaś trzypokoleniowych — praktycznie niemożliwym. Dlatego też dopiero ostatnio nastąpił pewien postęp wiedzy na temat podłoża genetycznego tej formy cukrzycy, o czym będzie mowa w jednym z kolejnych paragrafów.

Jak już wspomniano, czynniki transkrypcyjne mają duże znaczenie w patogenezie cukrzycy typu 2 o wczesnym początku, dziedziczącej się autosomalnie dominująco i związanej z rzadkimi mutacjami, znacząco zmieniającymi strukturę oraz funkcję białka. W przypadku genów predysponujących do bardziej powszechnych form cukrzycy typu 2 o późniejszym początku podłoże molekularne stanowią zapewne dość powszechne polimorfizmy. Istnieje kilka szlaków metabolicznych i związanych z nimi protein mogących potencjalnie odpowiadać za wystąpienie tej choroby. Bardzo interesująca grupa są białka biorące udział w metabolizmie witaminy D.

Witamina D a sekrecja i działanie insuliny

Podstawowe efekty biologiczne działania witaminy D to wpływ na metabolizm niektórych jonów, głównie wapnia, oraz na wzrost i różnicowanie komórek [25, 26]. Regulacja poziomu wapnia w surowicy przez os. witaminę D-parathormon jest dobrze poznana na poziomie komórkowym i molekularnym. Witamina D może pochodzić ze źródeł pokarmowych lub też być wytwarzana w skórze pod wpływem energii światła słonecznego. Źródła roślinne dostarczają ergosterolu (witamina D₂), natomiast produkty zwierzęce zawierają cholecalcyferol (witamina D₃). Witamina D wymaga dwóch hydroksylacji, aby przejść w formę aktywną: 1,25-dihydroksywitaminę D₃, czyli calcitriol. Wątroba jest głównym miejscem 25-hydroksylacji, podczas gdy w nerkach ma miejsce 1-hydroksylacja, końcowy etap syntezy aktywnego hormonu. Calcitriol działa jak hormon steroidowy, aktywując jądrowy receptor witaminy D i regulując ekspresję innych genów, wśród których są geny determinujące absorpcję wapnia i jego homeostazę. Istnieje też liczne dowody wpływu 1,25-dihydroksywitaminy D₃ na funkcjonowanie części endokrynnej trzustki i obwodowe działanie insuliny. Komórki β wysp trzustkowych zawierają receptor dla 1,25-dihydroksywitaminy D₃ i zależnych od niej białek wiążących wapń, co przemawia za wpływem tego steroidu na wydzielanie insuliny [27]. Wpływ ten może mieć charakter pośredni (poprzez zmianę poziomu ogólnie-

ustrojowego wapnia) [28, 29], ale także bezpośredni poprzez regulację kanałów wapniowych komórek β [30]. Wzrost wewnątrzkomórkowego poziomu wapnia, niezależnie od leżącego u jego podłoża mechanizmu, powoduje aktywację kalmoduliny i kinaz proteinowych, co powoduje stymulację granul zgromadzonej insuliny, degranulację komórki β i wyrzut insuliny [31]. Ponadto istnieją dane przemawiające za kontrolą przez witaminę D różnicowania i wzrostu komórek β [32]. W badaniach *in vivo* wśród zwierząt wykazano, że jest ona niezbędna do utrzymania wydzielania insuliny i prawidłowej tolerancji glukozy, a pozbawienie ich witaminy D wyraźnie zmniejszało wydzielanie tego hormonu [33, 34]. Uważa się, że podobna sytuacja występuje u ludzi. Suplementacja witaminy D poprawiała wydzielanie insuliny wśród osób zakwalifikowanych jako zagrożone cukrzycą typu 2 w populacji imigrantów azjatyckich żyjących w Wielkiej Brytanii [35]. Nie udało się wykazać poprawy tolerancji glukozy po suplementacji witaminy D w cukrzycy typu 2 [36, 37], natomiast obserwacje dotyczące możliwości takiej poprawy u osób z nietolerancją glukozy są rozbieżne [35, 38, 39]. Kilka opublikowanych badań wskazuje na możliwy pozytywny wpływ witaminy D na obwodowe działanie insuliny. Dotyczy to na przykład badania klinicznego przeprowadzonego w grupie pacjentek z cukrzycą ciążową oraz badania starszej grupy wiekowej w populacji holenderskiej [40, 41]. Interesujący jest fakt, że witamina D może wpływać nie tylko na cukrzycę typu 2, ale — w związku z własnościami immunomodulacyjnymi — także na predyspozycje do cukrzycy typu 1 [42].

Wobec opisanych faktów jest jasne, że geny kodujące białka biorące udział w metabolizmie witaminy D mogą być odpowiedzialne za cukrzycę typu 2. Dotyczy to wszystkich etapów, na przykład powstawania jej aktywnej formy, transportu w surowicy krwi, działania receptorowego oraz postreceptorowych białek efektorowych.

Białka biorące udział w metabolizmie witaminy D a cukrzyca typu 2

Calpain 10 i inne proteazy

W 1996 roku opisano sprzężenie między regionem na chromosomie 2q a cukrzycą typu 2 w populacji Meksykanoamerykanów z Teksasu (Stany Zjednoczone) [21]. W wyniku kilkuletnich intensywnych prac, mających na celu identyfikację genu odpowiedzialnego za sprzężenie, ustalono, że w badanej populacji istnieje związek (*association*) między kilkoma

polimorfizmami (SNP's, *single nucleotide polymorphisms*) genu calpain 10, przedstawiciela dużej rodziny proteaz cytoplazmatycznych, a cukrzycą [43]. Ryzyko zachorowania na cukrzycę typu 2 nie wiąże się z wariantem jednego polimorfizmu genu, ale wynika raczej z haplotypów tworzonych przez allele trzech SNP-ów, którym nadano numerację 19, 43, 63. Wszystkie te SNP-y zlokalizowane są w intronach, a więc nie wpływają na strukturę aminokwasowa białka; ich znaczenie na poziomie molekularnym wymaga jeszcze dalszych badań. Istnieje prawdopodobieństwo, że wpływają one na stopień ekspresji genu [43]. U nosicieli haplotypów obciążonych ryzykiem wystąpienia cukrzycy typu 2 stwierdzono zmniejszenie wydzielania insuliny [44]. Z drugiej strony, populacja Meksykanoamerykanów charakteryzuje się obecnością insulinooporności [45]. Za możliwym wpływem polimorfizmów w calpain 10 na insulinooporność przemawiają różnice masy ciała w grupach nosicieli poszczególnych haplotypów [46]. Znaczenie calpain 10 w patogenezie cukrzycy typu 2 jest różne w poszczególnych populacjach oraz w grupach etnicznych i będzie przedmiotem badań w najbliższych latach. U Meksykanoamerykanów gen ten wydaje się odpowiadać za 14% przypadków cukrzycy typu 2, podczas gdy w populacji brytyjskiej odsetek ten wynosi około 6% [43, 47]. Interesujący jest fakt, że statystyczne dowody przemawiają za tym, iż istnieje pozytywna interakcja między genem calpain 10 na chromosomie 2 a niezidentyfikowanym jeszcze genem na chromosomie 15 [48]. Obecność innego genu z rodziny calpain w tej lokalizacji sugeruje występowanie oczywistych analogii [43]. Interesującym pośrednim potwierdzeniem patogenetycznego znaczenia calpain w cukrzycy typu 2 jest fakt, że u chorych na AIDS leczonych inhibitorami proteaz w trakcie tej terapii pojawiała się nietolerancja glukozy [49].

Na wyjaśnienie oczekuje mechanizm powstawania zaburzeń tolerancji glukozy związany z genem calpain 10. Calpains to duża rodzina proteaz wewnątrzkomórkowych [50]. Uczestniczą one w rozkładzie innych białek. Poprzez swą funkcję trawienną mogą także uaktywniać i modulować działanie innych enzymów. Calpains mają dwie kluczowe domeny wykazujące odmienne funkcje metaboliczne. Pierwsza z tych domen posiada aktywność endoproteinyazy, druga zaś kalmoduliny wiążącej Ca^{+2} . Aktywność calpain jest więc regulowana przez wewnątrzkomórkowe stężenie wapnia, choć istnieją także dowody bezpośredniego stymulującego wpływu 1,25-dihydroksywitaminy D₃ na ich aktywność [51]. Większość białek z rodziny calpain ulega ekspresji we wszystkich tkankach ludzkiego organizmu, co

wskazuje na ich znaczenie w utrzymaniu podstawowych funkcji komórkowych. Istnieją dowody na rolę tych białek w patofizjologii niektórych chorób u ludzi. Uważa się, że ich aktywność wpływa na rozległość martwicy w ostrym niedokrwieniu osrodkowego układu nerwowego. Inhibitory calpain zmniejszają poischemiczne zmiany w mózgu, co potencjalnie stwarza możliwość ich zastosowania u ludzi. Wysoka aktywność calpain prawdopodobnie odgrywa rolę w patogenezie choroby Alzheimera. Calpains wpływają też na proces apoptozy [50].

Podsumowując, ostatnie doniesienia dotyczące roli calpains 10 w patogenezie cukrzycy typu 2 stanowią bardzo interesujący materiał naukowy. Choć wiele pytań oczekuje jeszcze na odpowiedź, już dziś można stwierdzić, że mamy do czynienia z prawdziwym przełomem w wiedzy nie tylko na temat podłoża genetycznego i patogenyzy cukrzycy typu 2, ale także innych chorób o charakterze złożonym.

Receptor witaminy D

Witamina D wykazuje działanie metaboliczne poprzez swoisty receptor (VDR, *vitamin D receptor*) [26]. Gen VDR jest zlokalizowany na chromosomie 12q. Białko to ulega ekspresji w wielu rodzajach komórek, między innymi β wysp trzustkowych [27]. Gen ten wykazuje liczne polimorfizmy, w tym jeden wpływający na miejsce rozpoczęcia transkrypcji, a zatem powodujący powstawanie alternatywnych izoform. W populacji azjatyckiej mieszkającej w Londynie opisano związek innego polimorfizmu genu VDR (Apa I w intronie 8) z wydzielaniem insuliny [52]. Doniesienie to wymaga potwierdzenia w innych grupach etnicznych. Dotychczas nie ma publikacji dotyczących związku tego genu z fenotypem cukrzycy typu 2. Interesujący jest fakt, że przedstawiono dowody wpływu tego genu na powstawanie cukrzycy typu 1 w kilku populacjach, co może mieć związek z immunomodulacyjnym działaniem witaminy D za pośrednictwem tego genu [53–55].

Białko wiążące witaminę D

Istnieją opublikowane dane o sprzeczności między jedną z przedcukrzycowych cech ilościowych (poziom insuliny) a kilkoma wskaźnikami mikrosatelitarnymi na chromosomie 4q wśród Indian Pima [56]. Region ten zawiera gen związany z metabolizmem witaminy D: białko wiążące witaminę D (DBP, *vitamin D binding protein*) [56], które jest niezbędne dla komórkowej endocytozy, a w konsekwencji także wewnątrzkomórkowego metabolizmu witaminy D. Warianty aminokwasowe DBP mogą więc wpływać

na ilość aktywnej witaminy D w komórkach β i w rezultacie na sekrecję insuliny. W egzonie 11 tego genu znajdują się dwa częste polimorfizmy, które tworzą warianty aminokwasowe: substytucja GAT do GAG w kodonie 416 powodująca zastąpienie kwasu asparaginowego przez kwas glutaminowy oraz substytucja ACG do AAG w kodonie 420 powodująca zastąpienie treoniny przez lizynę [57]. W kilku populacjach wykazano związek tych polimorfizmów z sekrecją insuliny [58–60], natomiast w jednej, zamieszkującej Wyspy Polinezyjskie, z samą cukrzycą typu 2 [61]. Badanie w populacji kaukaskiej nie wykazało związku wspomnianych polimorfizmów DBP z cukrzycą typu 2 [62]. Trzeba zauważyć, że pozytywne doniesienia o związku DBP z cechami przedcukrzycowymi i cukrzycą typu 2 dotyczyły populacji innych niż kaukaskie. Może to wynikać z większej częstości haplotypów predysponujących do cukrzycy typu 2 w tych populacjach.

Hydroksylaza witaminy D

Powyżej podsumowano wyniki badań genów związanych z metabolizmem witaminy D (w ostatnich latach powstała bogata literatura na ten temat). Na tym nie kończy się jednak lista genów kandydatów z tej grupy. Na przykład, kilka lat temu został sklonowany kolejny gen uczestniczący w metabolizmie witaminy D, a tym samym potencjalnie wpływający na metabolizm glukozy: 1α -hydroksylaza 25OH-witaminy D3 (*25-hydroxyvitamin D3 1 α -hydroxylase*), enzym niezbędny do powstawania aktywnej formy witaminy D [63]. Rzadkie mutacje w tym genie powodują powstanie dziedzicznej formy krzywicy odpornej na witaminę D [64]. Gen ten nie był dotychczas analizowany pod względem wpływu częstszych polimorfizmów na powstawanie ilościowych cech przedcukrzycowych oraz cukrzycy typu 2. Zlokalizowany on jest na chromosomie 12q, w którym to regionie stwierdzono ostatnio sprzeczność z cukrzycą typu 2 [65, 66]. Fakty te czynią go szczególnie interesującym przedmiotem badań genetycznych.

PISMIENNICTWO

1. Kahn C.R.: Insulin action, diabetogenesis, and the cause of type II diabetes. *Diabetes* 1994; 43: 1066–1082.
2. Newman B., Selby J.V., King M.C., Slemenda C., Fabsitz R., Friedman G.D.: Concordance for type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in male twins. *Diabetologia* 1987; 30: 763–768.
3. Warram J.H., Rich S.S., Krolewski A.: Epidemiology and genetics of diabetes mellitus. W *Joslin's diabetes mellitus*, wyd. 13, Kahn C.R., Weir G.C. (red.) Pennsylvania: Lea & Febiger, Malvern, 1994.

4. Hattersley A.: Maturity-onset diabetes of the young: clinical heterogeneity explained by genetic heterogeneity. *Diabet. Med.* 1998; 15: 15–24.
5. Froguel P., Zouali H., Vionnet N., Velho G., Vaxillaire M., Sun F., Lesage S., Stoffel M., Takeda J., Passa P.: Familial hyperglycaemia due to mutations in glucokinase. *N. Engl. J. Med.* 1993; 328: 697–702.
6. Yamagata K., Oda N., Kaisaki P.J., Menzel S., Furuta H., Vaxillaire M., Southam L., Cox R.D., Lathrop G.M., Boriraj V.V., Chen X., Cox N.J., Oda Y., Yano H., Le Beau M.M., Yamada S., Nishigori H., Takeda J., Fajans S.S., Hattersley A.T., Iwasaki N., Hansen T., Pedersen O., Polonsky K.S., Bell G.I.: Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1a gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY 3). *Nature* 1996; 384: 455–458.
7. Yamagata K., Furuta H., Oda N., Kaisaki P.J., Menzel S., Cox N.J., Fajans S.S., Signorini S., Stoffel M., Bell G.I.: Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4a gene in the maturity-onset diabetes of the young (MODY 1). *Nature* 1996; 384: 458–460.
8. Stoffers D.A., Ferrer J., Clarke W.L., Habener J.F.: Early-onset type-II diabetes mellitus (MODY 4) linked to IPF1. *Nat. Genet.* 1997; 17: 138–139.
9. Horikawa Y., Iwasaki N., Hara M., Furuta H., Hinokio Y., Cockburn B.N., Lindner T., Yamagata K., Ogata M., Tomonaga O., Kuroki H., Kasahara T., Iwamoto Y., Bell G.I.: Mutation in hepatocyte nuclear factor-1 beta gene (TCF2) associated with MODY. *Nat. Genet.* 1997; 17: 384–385.
10. Malecki M.T., Jhala U.S., Antonellis A., Fields L., Doria A., Warram J.H., Montminy M., Krolewski A.S.: Mutations in BETA2/NEUROD1 gene responsible for early-onset type 2 diabetes mellitus. *Nat. Genet.* 1999; 23: 323–328.
11. Froguel P., Zouali H., Vionnet N., Velho G., Vaxillaire M., Sun F., Lesage S., Stoffel M., Takeda J., Passa P.: Familial hyperglycemia due to mutations in glucokinase. Definition of a subtype of diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1993; 328: 697–702.
12. Byrne M.M., Sturis J., Clement K., Vionnet N., Pueyo M.E., Stoffel M., Takeda J., Passa P., Cohen D., Bell G.I.: Insulin secretory abnormalities in subjects with hyperglycemia due to glucokinase mutations. *J. Clin. Invest.* 1994; 93: 1120–1130.
13. Bell G.I., Pilks S.J., Weber I.T., Polonsky K.S.: Glucokinase mutations, insulin secretion, and diabetes mellitus. *Ann. Rev. Physiol.* 1996; 58: 171–186.
14. Ballinger S.W., Shoffner J.M., Hedaya E.V., Trousne I., Polak M.A., Koontz D.A., Wallace D.C.: Maternally transmitted diabetes and deafness associated with a 10.4 kb mitochondrial DNA deletion. *Nat. Genet.* 1992; 1: 11–15.
15. van den Ouweland J.M., Lemkes H.H., Ruitenbeek W., Sandkuijl L.A., de Vrijlder M.F., Struyvenberg P.A., van de Kamp J.J., Maassen J.A.: Mutation in mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) gene in a large pedigree with maternally transmitted type II diabetes mellitus and deafness. *Nat. Genet.* 1992; 1: 368–371.
16. Lehto M., Wipemo C., Ivarsson S.A., Lindgren C., Lipsanen-Nyman M., Weng J., Wibell L., Widen E., Tuomi T., Groop L.: High frequency of mutations in MODY and mitochondrial genes in Scandinavian patients with familial early-onset diabetes. *Diabetologia* 1999; 42: 1131–1137.
17. Goto Y., Nonaka I., Horai S.: A mutation in the tRNA(Leu)(UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies. *Nature* 1990; 348: 651–653.
18. Magre J., Karayanni C., Hadjiathanasiou C.G., Desbois-Mouthon C., Meier M., Vigouroux C., Stavrinadis C., Sinaniotis C., Caron M., Capeau J.: Dominant transmission of insulin resistance in a type A family resulting from a heterozygous nonsense mutation in the insulin receptor gene and associated with decreased mRNA level and insulin binding sites. *Diabetes* 1997; 46: 1901–1903.
19. Kadowaki H., Takahashi Y., Ando A., Momomura K., Kaburagi Y., Quin J.D., MacCuish A.C., Koda N., Fukushima Y., Taylor S.I., Akanuma Y., Yazaki Y., Kadowaki T.: Four mutant alleles of the insulin receptor gene associated with genetic syndromes of extreme insulin resistance. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997; 237: 516–520.
20. White M.F., Kahn C.R.: Molecular aspects of insulin action. W: *Joslin's diabetes mellitus*, wyd. 13, (red.) Kahn C.R., Weir G.C. (red.) Pennsylvania: Lea & Febiger, Malvern, 1994.
21. Hanis C.L., Boerwinkle E., Chakraborty R., Ellsworth D.L., Concanon P., Stirling B., Morrison V.A., Wapelhorst B., Spielman R.S., Gogolin-Ewens K.J., Shepard J.M., Williams S.R., Risch N., Hinds D., Iwasaki N., Ogata M., Omori Y., Petzold C., Rietzch H., Schroder H.E., Schulze J., Cox N.J., Menzel S., Boriraj V.V., Chen X.: A genome-wide search for human non-insulin-dependent (type 2) diabetes genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 2. *Nat. Genet.* 1996; 13: 161–166.
22. Ji L., Malecki M., Warram J.H., Yang Y., Rich S.S., Krolewski A.S.: New susceptibility locus for NIDDM is localized to human chromosome 20q. *Diabetes* 1997; 46: 876–881.
23. Bowden D.W., Sale M., Howard T.D., Qadri A., Spray B.J., Rothschild C.B., Akots G., Rich S.S., Freedman B.I.: Linkage of genetic markers on human chromosomes 20 and 12 to NIDDM in Caucasian sib pairs with a history of diabetic nephropathy. *Diabetes* 1997; 46: 882–886.
24. Zouali H., Hani E.H., Philippi A., Vionnet N., Beckmann J.S., Demenais F., Froguel P.: A susceptibility locus for early-onset non-insulin dependent (type 2) diabetes mellitus maps to chromosome 20q, proximal to the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene. *Hum. Mol. Genet.* 1997; 6: 1401–1408.
25. Reichel H., Koeffler H.P., Norman A.W.: The role of the vitamin D endocrine system in health and disease. *N. Engl. J. Med.* 1989; 320: 980–991.
26. Feldman D.: Vitamin D, parathyroid hormone, and calcium: a complex regulatory network. *Am. J. Med.* 1999; 107: 637–639.
27. Norman A.W.: The vitamin D endocrine system: identification of another piece of the puzzle. *Endocrinology* 1994; 134: 1601A–1601C.
28. Beaulieu C., Kestekian R., Havrankova J., Gascon-Barre M.: Calcium is essential in normalizing intolerance to glucose that accompanies vitamin D depletion in vivo. *Diabetes* 1993; 42: 35–43.
29. Hochberg Z., Borochowitz Z., Benderli A., Vardi P., Oren S., Spirer Z., Heyman I., Weisman Y.: Does 1,25-dihydroxyvitamin D participate in the regulation of hormone release from endocrine glands? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1985; 60: 57–61.
30. Sergeev I.N., Rhoten W.B.: 1,25-Dihydroxyvitamin D3 evokes oscillations of intracellular calcium in a pancreatic beta-cell line. *Endocrinology* 1995; 136: 2852–2861.
31. Henquin J.C.: Cell biology of insulin secretion. W *Joslin's diabetes mellitus*, wyd. 13, pod red. Kahn C.R., Weir G.C. Pennsylvania: Lea & Febiger, Malvern, 1994.
32. Lee S., Clark S.A., Gill R.K., Christakos S.: 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and pancreatic beta-cell function: vitamin D receptors, gene expression, and insulin secretion. *Endocrinology* 1994; 134: 1602–1610.
33. Bickle D.D.: Clinical counterpoint: vitamin D; new actions, new analogues, new therapeutic potential. *Endocr. Rev.* 1992; 13: 765–784.
34. Cade C., Norman A.W.: Rapid normalization/stimulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3 of insulin secretion and glucose tolerance in the vitamin D-deficient rat. *Endocrinology* 1987; 120: 1490–1497.
35. Boucher B.J., Mannan N., Noonan K., Hales C.N., Evans S.J.: Glucose intolerance and impairment of insulin secretion in relation to vitamin D deficiency in east London Asians. *Diabetologia* 1995; 38: 1239–1245.
36. Gedik O., Akalin S.: Effects of vitamin D deficiency and repletion on insulin and glucagon secretion in man. *Diabetologia* 1986; 29: 142–145.

37. Orwoll E., Riddle M., Prince M.: Effects of vitamin D on insulin and glucagon secretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am. J. Clin. Nutr.* 1994; 59: 1083–1087.
38. Bansal S., Rizvi S.N.A., Rao M.B. i wsp.: Effect of hypocalcaemia on glucose tolerance, insulin release and free fatty acid levels in human subjects. *Postgrad. Med.* 1975; 52: 471–475.
39. Mak R.H.: Intravenous 1,25 dihydroxycholecalciferol corrects glucose intolerance in haemodialysis patients. *Kidney Int.* 1992; 41: 1049–1054.
40. Baynes K.C., Boucher B.J., Feskens E.J., Kromhout D.: Vitamin D, glucose tolerance and insulinaemia in elderly men. *Diabetologia* 1997; 40: 344–347.
41. Rudnicki P.M., Molsted-Pedersen L.: Effect of 1,25-dihydroxycholecalciferol on glucose metabolism in gestational diabetes mellitus. *Diabetologia* 1997; 40: 40–44.
42. Mathieu C., Laureys J., Sobis H., Vandeputte M., Waer M., Boillon R.: 1,25-Dihydroxyvitamin D3 prevents insulinitis in NOD mice. *Diabetes* 1992; 41: 1491–1495.
43. Horikawa Y., Oda N., Cox N.J., Li X., Orho-Melander M., Hara M., Hinokio Y., Linder T.H., Mashima H., Schwarz P.E.H., del Bosque-Plata L., Horikawa Y., Oda Y., Yoshiuchi I., Colilla S., Polonsky K.S., Wei S., Concannon P., Iwasaki N., Schulze J., Baier L.J., Bogardus C., Groop L., Boerwinkle E., Hanis C.L., Bell G.L.: Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nat. Genet.* 2000; 26: 163–175.
44. Hanis C.L.: From linkage to disease gene: the pursuit of type 2. Prezentacja na 59 Kongresie ADA, San Antonio, 1999.
45. Haffner S.M., Stern M.P., Dunn J., Mobley M., Blackwell J., Bergman R.N.: Diminished insulin sensitivity and increased insulin response in nonobese, nondiabetic Mexican Americans. *Metabolism* 1990; 39: 842–847.
46. Schwarz P.: Genetic studies uncover a new biochemical pathway leading to type 2 diabetes. Prezentacja na XVII Międzynarodowym Sympozjum Cukrzycy w Karlsburgu, 2000.
47. Frayling T.M., Evans J.C., Ellard S., Hattersley A.T., Study group BDA Warren 2 Consortium: Transmission disequilibrium at the calpain10/NIDDM1 gene in UK Caucasian type 2 diabetes parent-offspring trios. *Diabetes* 2000; 49, supl. 1, streszczenie 30-OR.
48. Cox N.J., Frigge M., Nicolae D.L., Concannon P., Hanis C.L., Bell G.L., Kong A.: Loci on chromosome 2 (NIDDM1) and 15 interact to increase susceptibility to type 2 diabetes in Mexican Americans. *Nat. Genet.* 1999; 21: 213–215.
49. Martinez E., Conget I., Lozano L., Casamitjana R., Gatell J.M.: Reversion of metabolic abnormalities after switching from HIV-1 protease inhibitors to nevirapine. *AIDS* 1999; 13: 805–810.
50. Sorimachi H., Ishiura S., Suzuki K.: Structure and physiological function of calpains. *Biochem. J.* 1997; 328: 721–732.
51. Ravid A., Koren R., Rotem C., Garach-Jehoshua O., Glaser T., Liberman U.A.: 1,25-Dihydroxyvitamin D3 increases the cellular content of the calcium-activated neutral protease mu-calpain in renal cell carcinoma. *Endocrinology* 1994; 135: 2822–2825.
52. Hitman G.A., Mannan N., McDermott M.F., Aganna E., Ogunkolade B.W., Hales C.N., Boucher B.J.: Vitamin D receptor gene polymorphisms influence insulin secretion in Bangladeshi Asians. *Diabetes* 1998; 47: 688–690.
53. McDermott M.F., Ramachandran A., Ogunkolade B.W., Aganna E., Curtis D., Boucher B.J., Snehathatha C., Hitman G.A.: Allelic variation in the vitamin D receptor influences susceptibility to IDDM in Indian Asians. *Diabetologia* 1997; 40: 971–975.
54. Pani M.A., Knapp M., Donner H., Braun J., Baur M.P., Usadel K.H., Badenhop K.: Vitamin D receptor allele combinations influence genetic susceptibility to type 1 diabetes in Germans. *Diabetes* 2000; 49: 504–507.
55. Chang T.J., Lei H.H., Yeh J.I., Chiu K.C., Lee K.C., Chen M.C., Tai T.Y., Chuang L.M.: Vitamin D receptor gene polymorphisms influence susceptibility to type 1 diabetes mellitus in the Taiwanese population. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 2000; 52: 575–580.
56. Pratley R.E., Thompson D.B., Prochazka M., Baier L., Mott D., Ravussin E., Sakul H., Ehm M.G., Burns D.K., Foroud T., Garvey W.T., Hanson R.L., Knowler W.C., Bennett P.H., Bogardus C.: An autosomal genomic scan for loci linked to prediabetic phenotypes in Pima Indians. *J. Clin. Invest.* 1998; 101: 1757–1764.
57. Baier L.J., Dobberfuhl A.M., Pratley R.E., Hanson R.L., Bogardus C.: Variations in the vitamin D-binding protein (Gc locus) are associated with oral glucose tolerance in nondiabetic Pima Indians. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998; 83: 2993–2996.
58. Szathmary E.J.: The effect of Gc genotype on fasting insulin level in Dogrib Indians. *Hum. Genet.* 1987; 75: 368–372.
59. Iyengar S., Hamman R.F., Marshall J.A., Majumder P.P., Ferrell R.E.: On the role of vitamin D binding globulin in glucose homeostasis: results from the San Luis Valley Diabetes Study. *Genet. Epidemiol.* 1989; 6: 691–698.
60. Hirai M., Suzuki S., Hinokio Y., Hirai A., Chiba M., Akai H., Suzuki C., Toyota T.: Variations in vitamin D-binding protein (group-specific component protein) are associated with fasting plasma insulin levels in Japanese with normal glucose tolerance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000; 85: 1951–1953.
61. Kirk R.L., Serjeantson S.W., Zimmet P.: Genes and diabetes in the Pacific. W: Mimura G., Baba S., Goto Y., Kobberling J. (red.) *Clinicogenic genesis of diabetes mellitus*. Amsterdam: *Excerpta Medica* 1982; 34–41.
62. Klupa T., Malecki M.T., Hanna L., Sieradzka J., Frey J., Warram J.H., Sieradzki J., Krolewski A.S.: Amino acid variants of the vitamin D-binding protein and risk of diabetes in caucasians. *European Journal of Endocrinology* 1999; 141: 489–492.
63. Glorieux F.H., St-Arnaud R.: Molecular cloning of (25-OH D)-1 alpha-hydroxylase: an approach to the understanding of vitamin D pseudo-deficiency. *Recent. Prog. Horm. Res.* 1998; 53: 341–349.
64. Kitanaka S., Takeyama K., Murayama A., Sato T., Okumura K., Nogami M., Hasegawa Y., Niimi H., Yanagisawa J., Tanaka T., Kato S.: Inactivating mutations in the 25-hydroxyvitamin D3 1alpha-hydroxylase gene in patients with pseudovitamin D-deficiency rickets. *N. Engl. J. Med.* 1998; 338: 653–661.
65. Bektas A., Suprenant M.E., Wogan L.T., Plengvidhya N., Rich S.S., Doria A.: Evidence of a novel type 2 diabetes locus placed 50 cM from NIDDM2 on chromosome 12q. *Diabetes* 1999; 48, supl. 1, streszczenie 0201.
66. Ehm M.G., Karnoub M.C., Sakul H., Wagner M.J., Weber J.L., Vaske D., Burns D.K.: Genome-wide search for type 2 diabetes susceptibility genes in Caucasians, Mexican Americans, African Americans, and Japanese Americans. *Diabetes* 1999; 48, supl. 1, streszczenie 0198.